

## PROTEIN HYDROLYZATE AND ITS PRODUCTION

Patent number: JP5084050  
Publication date: 1993-04-06  
Inventor: NISHIMURA NOBUAKI; HARADA ATSUSHI; MIKI KYOKO; KENMASA GORO  
Applicant: DAINIPPON SEITO  
Classification:  
- international: A23L1/227  
- european:  
Application number: JP19910274955 19910927  
Priority number(s): JP19910274955 19910927

79

[Report a data error here](#)

### Abstract of JP5084050

PURPOSE: To obtain the subject hydrolyzate, improved in tastiness and having high safety and excellent characteristics as a seasoning by hydrolyzing a proteinaceous raw material with specific two kinds of enzymes in two stages. CONSTITUTION: A proteinaceous raw material such as gelatin is hydrolyzed with a KOJI mold of the genus Aspergillus or an enzyme extracted therefrom and a KOJI mold of the genus Rhizopus or an enzyme extracted therefrom in two stages and the resultant protein hydrolyzate is preferably subjected to treatment with a reverse osmosis membrane at <=50 deg.C temperature under <=30kg/cm<sup>2</sup> pressure by using a loose RO membrane having >=10% common salt removal ratio to afford the objective hydrolyzate.

Data supplied from the **esp@cenet** database. - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

**特開平5-84050**

(43) 公開日 平成5年(1993)4月6日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>

A 2 3 L 1/227

識別記号 庁内整理番号  
B 8114-4B

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数4(全7頁)

(21) 出願番号

特願平3-274955

(22) 出願日

平成3年(1991)9月27日

(71) 出願人 000207610

大日本製糖株式会社

東京都千代田区丸の内1丁目5番1号

(72) 発明者 西村 信明

東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 大  
日本製糖株式会社内

(72) 発明者 原田 淳

東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 大  
日本製糖株式会社内

(72) 発明者 三木 恭子

東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 大  
日本製糖株式会社内

(74) 代理人 弁理士 羽生 栄吉

最終頁に統ぐ

(54) 【発明の名称】 蛋白質加水分解物及びその製造法

(57) 【要約】

【目的】 本発明は、従来法の問題点を解消し、安全性  
が高く、かつ調味料として優れた特性を有する蛋白質加  
水分解物を提供することを目的とする。

【構成】 本発明は、蛋白質原料を *Aspergillus* 属の麹  
菌またはそれから抽出された酵素と *Rhizopus* 属の麹菌ま  
たはそれから抽出された酵素により、二段階に加水分解  
することを特徴とする蛋白質加水分解物の製造法および  
該製造法により製造された蛋白質加水分解物に関する。

【効果】 本発明によれば、安全性が高く、かつ調味料  
として優れた特性を有する蛋白質加水分解物を提供でき  
る。

(2)

特開平5-84050

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】蛋白質原料を *Aspergillus* 属の麹菌またはそれから抽出された酵素と *Rhizopus* 属の麹菌またはそれから抽出された酵素により、二段階に加水分解することを特徴とする蛋白質加水分解物の製造法。

【請求項2】請求項1記載の製造法により製造された蛋白質加水分解物。

【請求項3】請求項1記載の製造法で製造した蛋白質加水分解物を食塩除去率10%以上のルーズR O膜を用い、圧力30kg/cm<sup>2</sup>以下、温度50℃以下の逆浸透膜処理することを特徴とする蛋白質加水分解物の製造法。

【請求項4】請求項3記載の製造法により処理された蛋白質加水分解物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、蛋白質を酵素にて加水分解することにより製造される呈味性のすぐれた蛋白質加水分解物とその製造法に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】調味料はグルタミン酸、イノシン酸、グアニル酸に代表される化学調味料と動・植物の蛋白質を中心とする天然調味料に大別される。天然調味料は、動物肉、魚介類、野菜から抽出されるエキス調味料、動植物の蛋白質を加水分解した動物性蛋白加水分解物（以下「HAP」という）、植物性蛋白加水分解物（以下「HVP」という）の調味料、酵母を加水分解し抽出する酵母エキス調味料等があり、工業的規模で製造され、食品加工に広く用いられている。

【0003】これら天然調味料の内でも代表的なHAP、HVPは、脱脂大豆等の植物性蛋白質や動物の骨、皮等に含まれる動物性蛋白質等の比較的安価な未利用資源を原料として加水分解して製造されている。HAP、HVPの製造法は通常酸分解法であり、動植物の蛋白質をアミノ酸までに完全に加水分解するので呈味力の強い調味料となる。しかし最近、酸分解法では人体に有害なモノクロロプロパンオール（以下「MCP」という）やジクロロプロパンオール（以下「DCP」という）等のクロロヒドリンが生成することが判り、食品素材として問題になりつつある。これは原料に含まれる微量の脂肪成分と酸分解に用いる高濃度の塩酸とにより高温反応条件で生成されると考えられている（Z. Lebensm. Unters. Forsch., 167, 241, 1978）。

【0004】一方、酵素分解法は酸分解法のような高濃度の塩酸による高温反応条件ではないので安全性の高い製品が得られ、各種酵素を用いた特徴のある方法が提案されている（特開昭61-28370号、特開昭51-115963号）。しかし、一般に全アミノ酸遊離率〔（全遊離アミノ酸量）/（全アミノ酸量）×100〕（以下「全遊離率」という）は40%以下であり、酸分解法の呈味性には遠く及ばず、むしろ中間分解物のペプチドの生成のために、

10

2

苦味を呈するものが多い。

【0005】また一方、麹のような微生物菌体の酵素系を用いる麹法は、わが国古来からある醤油や魚醤の製造法として知られているが、最近では脱脂大豆や魚エキスへ適用した製造法も提案されている（特公昭60-3463号公報）。しかし麹法は反応時間が短くても6~7日を要し、工業的製造法としては、雑菌汚染等の工程管理や大容量のタンクを必要とし、全遊離率も60%以下と低く、難点の多い製造法である。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、従来の酸分解法のMCP、DCP等の生成、従来の酵素法のアミノ酸低遊離率、従来の麹法の長時間反応を改善した製造法により、呈味性の優れた蛋白質加水分解物を提供することを目的とするものである。

## 【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、蛋白質原料を *Aspergillus* 属の麹菌またはそれから抽出された酵素と *Rhizopus* 属の麹菌またはそれから抽出された酵素により、二段階に加水分解することを特徴とする蛋白質加水分解物の製造法および該製造法により製造された蛋白質加水分解物に関するものである。

【0008】本発明によれば、二種類の糸状菌由来の麹または菌体抽出酵素を二段階に反応させることにより全遊離率を55%以上とすることができる、更に逆浸透膜処理することによりアミノ酸とアミノ酸未分解物に分離し、アミノ酸遊離率80%以上の呈味力の強いHAP、HVPを提供することができる。酵素による蛋白質の加水分解は、種々のプロテアーゼおよびペプチダーゼにより行われるが、従来の麹および酵素剤単独では基質特異性の点から、特にグリシンやプロリンのようなアミノ酸を高度に遊離させることが困難とされており、全遊離率向上の妨げとなっていた。また、逆浸透膜処理によってアミノ酸を回収する際には、反応物中に旨味アミノ酸であるグルタミン酸やアスパラギン酸が高含有されていることが不可欠であり、全遊離率を高くすることが旨味調味料製造には最も重要な点である。

【0009】本発明ではこれらアミノ酸を効率よく遊離させるために、二種類の糸状菌由来の酵素を二段階で反応し、実施例1~4で示す通り、全遊離率55%以上の加水分解物が得られる。しかし、単一の酵素剤もしくは单一の麹もしくは本発明と異なった組み合わせでの反応では、比較例1、2、3に示す通り全遊離率30~45%程度と低いものしか得られていない。

【0010】蛋白質原料をゼラチンとした場合の本発明の実施例と比較例についての結果を表1に示す。本発明で用いる二種類の麹菌またはその抽出酵素のうち一方は、*Aspergillus* 属の麹菌またはそれから抽出された酵素であり、例えば、*Aspergillus* 属 (*Aspergillus oryzae, sojae, tamari, flavus, awamori, kawachi*)

50

(3)

特開平5-84050

3

1 等) の市販麹菌、例えば今野菌 (SK菌) (今野もやし(株)製) ハイソーヤ、ダイヤモンドC、BF 2号菌 ((株) 橋口松之助商店製) または当該麹の水もしくはアルコールで抽出した粗酵素、または当該麹菌起源の市販酵素剤、例えばプロテアーゼA (天野製薬(株)製) 、デナチームAP (長瀬産業(株)製) 、コクラーゼSS (三共(株)製) 等が挙げられる。もう一方は、Rhizopus属の麹菌またはそれから抽出された酵素であり、例えばRhizopus属 (Rhizopus oryzae, oligosporus, japonicus, javanicus, delemar等) の麹もしくは当該麹から水もしくはアルコールで抽出した粗酵素、または当該麹菌起源の市販酵素剤、例えばペプチダーゼR (天野製薬(株)製) が挙げられる。

【0011】酵素反応の条件としては、Aspergillus属、Rhizopus属のどちらを先に反応させてもよく、第一段反応、第二段反応ともに温度30~55℃、pH5.0~9.0、反応時間16~72時間、合計100時間以内が適当である。本発明での動植物蛋白質原料はゼラチンに限らず、小麦グルテンについては実施例5で示す通りで、それ以外の原料の脱脂大豆 (実施例6) 、グルテンミール (実施例7) 、乾燥酵母 (実施例8) 、フィッシュソルブル (実施例9) 等を用いることができ、表2にその結果を示す。

【0012】本発明の蛋白質加水分解物は全遊離率が55%以上と従来の酵素法に比べて高いが、蛋白質原料によっては未分解のペプチドが多量に存在する場合もあり、その中の苦味ペプチドの存在で苦味を呈するものもあり、旨味の強い調味料にするには、全遊離率をより高くすることが好ましい。本発明では、酵素分解物の全遊離率を上昇させる方法として、膜分画によりアミノ酸とペプチドに分離し、80%以上とすることで全遊離率100%の酸分解物と同程度の旨味呈味力を持つことができる。しかし、全遊離率55%以上の分解物の未分解物の未分解ペプチドは低分子ペプチドであり、膜の選定、通液条件を厳選する必要がある。

【0013】本発明の好ましい態様では、限外濾過膜と逆浸透膜の中間に位置する食塩除去率 [ (1 - (透過液濃度) / (供給液濃度 + 濃縮液濃度) / 2) × 100 ] 10%以上のルーズ逆浸透膜、例えばNTR-7410 (日東電工(株)製) を用いることにより全遊離率80%以上の蛋白質加水分解物を得ることができる。通液条件として、圧力は、好ましくは30kg/cm<sup>2</sup>以下、更に好ましくは5~10kg/cm<sup>2</sup>、温度は、好ましくは50℃以下、更に好ましくは30~40℃である。

【0014】本発明のゼラチンを原料とする酵素分解物を膜処理したHAPと同原料を酸分解したHAPの比較を表3に示す通り、旨味では酸分解法に匹敵するものが得られている。また、本発明の製造法では少量の未分解ペプチドが残存するのでコク味を与える効果が生じ、酸分解法に比べ、特徴的加わった調味料となっている。

4  
【0015】

【実施例】以下、調製例、実施例および比較例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらに限定されるものではない。

## 調製例1

蒸煮処理を施した水分40%の小麦ふすま1.7kgに対し、市販種麹今野菌 (SK菌) (商品名、今野もやし(株)製) 1.0gを添加し、25℃にて64時間静置培養し製麹を行った。

## 調製例2

蒸煮処理を施した水分30%の小麦ふすま1.4kgに対し、スラント培養したRhizopus oryzae IF0 4734株の水懸濁液300mlを添加し、25℃にて64時間静置培養し製麹を行った。

## 実施例1

ゼラチン10%溶液30Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、第一段蛋白質加水分解反応として、調製例1で得られたふすま麹1.5kgを添加し、40℃にて4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し40時間反応を行なった。次に水酸化ナトリウムを添加してpH8.0に調整し、第二段蛋白質加水分解反応として調製例2で得られたふすま麹1.5kgを添加し、40℃にて48時間反応を行った。反応終了後塩酸を添加してpH4.2に調整し、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。反応液を40メッシュのふるいにかけ、ふすま殻を取り除いた後、フィルターブレスにより濾過を行い濾過液 (Bx 1 4.0) を回収した。濾液に活性炭60gを加え50℃にて1時間攪拌した後、再び濾過を行った。得られた濾液のpHを水酸化ナトリウムにて5.5とした後、濃縮し、固形分71.2%のゼラチン加水分解物3.5kgを得た。

## 実施例2

実施例1とは逆に第一段反応でRhizopus属由来のふすま麹を用い、次に第二段反応としてAspergillus属由来の麹を用いて反応を行った。すなわち、pH8.0に調整したゼラチン10%溶液30Lに、第一段蛋白質加水分解反応として、調製例2で得られたふすま麹1.5kgを添加し、40℃にて44時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し、第二段蛋白質加水分解反応として調製例1で得られたふすま麹1.5kgを添加し、40℃にて48時間反応を行った。反応終了後塩酸を添加してpH4.2に調整し、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。反応液を40メッシュのふるいにかけ、ふすま殻を取り除いた後、フィルターブレスにより濾過を行い濾過液 (Bx 13.8) を回収した。濾液に活性炭60gを加え50℃にて1時間攪拌した後、再び濾過を行った。得られた濾液のpHを水酸化ナトリウムにて5.5とした後、濃縮し、固形分69.7%のゼラチン加水分解物3.6kgを得た。

## 実施例3

調製例1で作成した麹50gに対して水250mlを添加し、温度5℃にて2時間攪拌し酵素の水抽出を行った。水抽出

(4)

特開平5-84050

5

物をNo.2の濾紙にて濾過し、*Aspergillus*属麹由来酵素水抽出液190mlを得た。同様にして、調製例2で得られた麹50gに対して酵素の水抽出操作を行い、*Rhizopus*菌由来酵素水抽出液185mlを得た。ゼラチン10%溶液1Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、上記*Aspergillus*属麹由来酵素水抽出液190mlを添加し、40℃で4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し、更に40時間反応させた。再び水酸化ナトリウムを添加してpH8.0とし、*Rhizopus*菌由来酵素水抽出液185mlを添加し48時間反応を行った。反応液を遠心分離し、上澄画分(Bx 10.9)を回収した。以後は実施例1と同様に操作し、固体分70.8%のゼチラン酵素加水分解物115gを得た。

## 実施例4

ゼラチン10%溶液30Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、第一段蛋白加水分解反応として、調製例1で得られたふすま麹1.5kgを添加し、40℃にて4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し、40時間反応させた。次に水酸化ナトリウムを添加してpH8.0に調整し、第二段蛋白加水分解反応として「ペプチダーゼR」(商品名、天野製薬(株)製)60gを添加し、40℃にて48時間反応させた。

【0016】次に塩酸を添加してpH4.2に調整し、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。反応液を40メッシュのふるいにかけ、ふすま殻を取り除いた後、フィルターブレスにより濾過を行い濾液(Bx 14.0)を回収した。濾液に活性炭60gを加え50℃にて1時間攪拌した後、再び濾過を行った。得られた濾液のpHを水酸化ナトリウムにて5.5とした後、濃縮し、固体分71.2%のゼチラン加水分解物3.5kgを得た。

## 実施例5

実施例1と同様に二種類の糸状菌由來のふすま麹を用い小麦グルテンの加水分解を行った。

【0017】すなわち、pH8.5に調整した小麦グルテン10%溶液2Lに対し、第一段加水分解反応として調製例1の方法で得られたふすま麹を100g添加し、40℃、4時間反応を行った後、塩酸にてpH6.0に調整し、更に40時間反応した。次に水酸化ナトリウムにてpH8.0に調整し、第二段加水分解反応として、調製例2で得られたふすま麹を100g添加し48時間反応を行った。反応液を遠心分離し上澄画分(Bx 12.5)を回収し、ケイソウ土濾過を行った。濾液に活性炭4.0gを加え50℃にて1時間攪拌した後、再び濾過を行った。得られた濾液を水酸化ナトリウムにてpH5.5に調整し、濃縮を行い固体分72.5%の小麦グルテン酵素加水分解物235gを得た。

## 実施例6

実施例5と同様に脱脂大豆10%溶液2Lについて加水分解反応を行い、固体分70.1%の酵素加水分解物230gを得た。

## 実施例7

6

実施例5と同様にグルテンミール10%溶液2Lについて加水分解反応を行い、固体分72.4%の酵素加水分解物217gを得た。

## 実施例8

実施例5と同様に乾燥酵母10%溶液2Lについて加水分解反応を行い、固体分71.1%の酵素加水分解物198gを得た。

## 実施例9

実施例5と同様にフィシュソルブル10%溶液2Lについて加水分解反応を行い、固体分71.9%の酵素加水分解物225gを得た。

## 実施例10

実施例1で得られた加水分解液をBx 10.0に調整し、逆浸透膜分離装置に供した。すなわち、加水分解液20Lを逆浸透膜分離装置(装置名: R UW-5、膜: NTR-7410、日東電工(株)製)に温度40℃、圧力5kg/cm<sup>2</sup>の条件のもとで通液し、透過液10L(Bx 6.0)を回収した。更に未透過液に対して10L加水し、同条件下のもと再度通液し、透過液10L(Bx 2.8)を回収した。透過液を併せて濃縮し、ゼラチン酵素分解液1.6kg(固体分75.5%)を得た。

## 比較例1

ゼラチン10%溶液1Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、市販蛋白質加水分解酵素剤コクラーゼSS(商品名、三共(株))2gを添加し、40℃にて4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し更に40時間反応を行った。再び水酸化ナトリウムを添加してpH8.0としてコクラーゼSSを2g添加し48時間反応を行った。反応液に塩酸を添加してpH4.2とし、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。反応液を遠心分離し、上澄画分(Bx 13.0)を回収し、ケイソウ土濾過を行った。濾液に活性炭4gを加え、50℃にて1時間攪拌した後、再び通過を行った。得られた濾液に対し水酸化ナトリウムを添加してpH5.5とし、濾液を濃縮し固体分70.8%のゼラチン加水分解物106gを得た。

## 比較例2

比較例1と同様にゼラチン10%溶液1Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、蛋白質加水分解酵素剤ペプチダーゼR 2gを添加し、40℃にて4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し更に40時間反応を行った。再び水酸化ナトリウムを添加してpH8.0としペプチダーゼRを2g添加し48時間反応を行った。反応液に塩酸を添加してpH4.2とし、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。以後、比較例1と同様の処理を行い、固体分72.3%のゼチラン加水分解物102gを得た。

## 比較例3

ゼラチン10%溶液2Lに水酸化ナトリウムを添加してpH8.5に調整し、*Bacillus subtilis*由来の市販酵素剤プロテアーゼN(商品名、天野製薬(株)製)4gを添加

(5)

特開平5-84050

7

し、40℃にて4時間反応を行った。次に塩酸を添加してpH6.0に調整し更に40時間反応を行った。再び水酸化ナトリウムを添加してpH8.0とし、ペプチダーゼRを2g添加し48時間反応を行った。反応液に塩酸を添加してpH4.2とし、攪拌下に80℃、10分間加熱し反応を停止させた。以後、比較例1と同様の処理を行い、固形分70.8%のゼラチン加水分解物203gを回収した。

比較例4

8

ゼラチン1kgに対し16%塩酸水溶液2kgを加え、攪拌しながら100℃で48時間加水分解を行った。続いて反応液に30%水酸化ナトリウムを加えpH5.0に調整し、酸加水分解液を回収した。得られた酸加水分解液に活性炭20gを加え、ケイソウ土濾過をした後濃縮し、ゼラチン酸加水分解物（固形分76.5%）1.9kgを得た。

【0018】

【表1】

(6)

特開平5-84050

項目	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	比較例1	比較例2	比較例3
使用酵素	麹 (SK菌) 麹 (Rhi菌)	麹 (Rhi菌) 麹 (SK菌)	麹 (SK菌) 麹 (Rhi菌)	麹 (SK菌)	コラーゲン SS コラーゲン R	ペプチド SS ペプチド R	アラニン-ゼ N ペプチド-ゼ R
第一段 第二段							
反応時間							
第一段	44	44	44	44	44	44	44
第二段	48	48	48	48	48	48	48
全アミノ酸遊離率(%)	62.0	60.0	58.7	65.7	32.1	44.4	38.4
各アミノ酸遊離率(%)							
グリシン	55.0	54.6	50	56.6	20.2	37.3	25.9
プロリン	69.5	55.2	63.7	72.1	10.0	43.2	28.5
グルタミン酸	66.2	49.9	44.9	64.6	16.4	20.1	15.9
ロイシン	81.0	80.0	72.3	81.8	54.3	62.9	52.0
苦味	-	±	±	-	++	++	++
旨味	++	++	++	++	+	+	+

【0019】

表2

11

(7)

特開平5-84050

12

蛋白質原料	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8	実施例9
	小麦グルテン	脱脂大豆	グルテンペール	乾燥酵母	フィッシュソルブル
固形分(%)	72.5	70.1	72.4	71.1	71.9
食 塩(%)	8.3	7.5	8.0	8.5	8.2
全アミノ酸遊離率(%)	80.1	80.1	76.8	71.8	67.9
各アミノ酸遊離率(%)					
グリシン	65.1	59.3	57.6	48.4	66.4
プロリン	73.6	88.9	88.0	67.0	71.8
グルタミン酸	68.5	63.0	62.0	55.0	68.3
ロイシン	97.3	99.9	91.6	90.4	66.0
苦味	-	-	+	-	-
旨味	+++	+++	++	+++	++

【0020】

【表3】

項目	実施例10	比較例4
アミノ酸遊離率(%)	85.0	99.6
食塩分(%)	17.1	39.9
旨味	+++	+++
コク味	++	±

【0021】

【発明の効果】本発明によれば、酵素分解であるので安全性の高い製品が得られ、二種類の酵素の組み合わせ反応でアミノ酸遊離率の高い分解物が得られ、更に必要に

30 応じて膜処理を行い、全アミノ酸遊離率を80%以上にすることにより酸分解物と同程度の呈味力を持ち、また若干のペプチドの残存によりコク味を持つ調味料を提供することができる。

フロントページの続き

(72)発明者 堅正 五郎

東京都千代田区丸の内一丁目5番1号 大  
日本製糖株式会社内